

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12Q 1/68

G01N 33/50 G01N 33/68



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02103446.X

[43] 公开日 2003 年 8 月 13 日

[11] 公开号 CN 1435488A

[22] 申请日 2002.2.1 [21] 申请号 02103446.X

[71] 申请人 先进基因股份有限公司

地址 台湾省台中市工业区七路 2-1 号

[72] 发明人 徐立伟 张素真

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

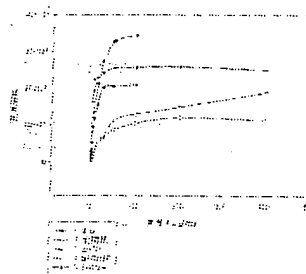
代理人 任永武

权利要求书 2 页 说明书 11 页 附图 6 页

[54] 发明名称 供制造生物芯片用的塑料载片

[57] 摘要

本发明有关一种表面经化学处理的塑料载片，用于在其表面上固定蛋白质、肽或小分子化合物以制造生物芯片。本发明还有关一种表面经处理的聚苯乙烯材质的塑料载片，用于在其表面上固定寡聚核苷酸或聚核苷酸以制造 DNA 芯片。



I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种表面经处理的塑料载片，其特征在于，包含塑料载片和于该塑料载片上充作间隔层的涂层。
2. 如权利要求 1 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，该塑料载片的材质是聚碳酸酯，或一种或多种单体所制备的同聚物或共聚物，该单体是选自乙烯，卤乙烯，丙烯，卤丙烯，丙烯酸酯，甲基丙烯酸酯，丁二烯，丙烯腈，原冰片烯或苯乙烯。
3. 如权利要求 1 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，该塑料载片的材质是苯乙烯的聚合物。
4. 如权利要求 1 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，该塑料载片具有至少一个凹槽。
5. 如权利要求 4 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，每一个凹槽的深度可为相同或不同，且是介于低于 0.03MM 至 0.5MM 之间。
6. 如权利要求 1 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，于涂覆该塑料载片前，利用多官能性醛及随后浸没于提供 NH_2 基团的前体溶液中以先期处理该塑料载片。
7. 如权利要求 6 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，该多官能性醛是戊二醛。
8. 如权利要求 1 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，该提供 NH_2 基团的前体是 NH_4OH 。
9. 如权利要求 1 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，该涂层是由多官能性分子所构成。
10. 如权利要求 9 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，该多官能性分子是于每一个终端含有至少一个环氧基的多官能性环氧化物。
11. 如权利要求 10 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，位于该多官能性环氧化物一端的环氧基是与该经先期处理的塑料载片的表面上的胺基反应。
12. 如权利要求 10 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，位于该

多官能性环氧化物的另一端的环氧基是与蛋白质、肽或小分子化合物的自由羟基，氢硫基及 / 或胺基反应。

13. 如权利要求 10 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，该多官能性环氧化物是含有 6 至 24 个碳原子的化学链。

14. 如权利要求 1 所述的表面经处理的塑料载片，其特征在于，该蛋白质、肽或小分子化合物是呈均一相或不均相。

15. 一种供固定寡聚核苷酸或聚核苷酸用的表面经处理的聚苯乙烯材质载片，其特征在于，包含聚苯乙烯材质载片和于该聚苯乙烯材质载片上充作间隔层的涂层。

16. 如权利要求 15 所述的表面经处理的聚苯乙烯材质载片，其特征在于，该涂层是通过于碱性条件下覆上试剂溶液而形成，该试剂溶液包含不含有 NH_4^+ 基团的缓冲液且该缓冲液含有提供正电荷的聚合物。

17. 如权利要求 16 所述的表面经处理的聚苯乙烯材质载片，其特征在于，该提供正电荷的聚合物是聚离胺酸。

18. 如权利要求 16 所述的表面经处理的聚苯乙烯材质载片，其特征在于，该不含有 NH_4^+ 基团的缓冲液是选自碳酸盐缓冲液，磷酸盐缓冲液或柠檬酸盐缓冲液。

19. 如权利要求 16 所述的表面经处理的聚苯乙烯材质载片，其特征在于，该碱性条件是介于 PH9 至 11 之间。

20. 如权利要求 15 所述的表面经处理的聚苯乙烯材质载片，其特征在于，该聚苯乙烯材质载片具有至少一个凹槽。

21. 如权利要求 20 所述的表面经处理的聚苯乙烯材质载片，其特征在于，每一个凹槽的深度可为相同或不同，且是介于低于 0.03MM 至 0.5MM 之间。

供制造生物芯片用的塑料载片

(1) 技术领域

本发明有关一种用于制造生物芯片的表面经处理的塑料载片。

(2) 背景技术

玻璃载片已被广泛地用于充作制造 DNA 芯片和蛋白质芯片的基材。然而，迄今玻璃载片于充作生物芯片的基材上已显现出若干缺点。首先，玻璃载片本身易碎，且于操作上需小心处理。玻璃载片的表面不易经化学处理以期能成功地固定生物性小分子化合物（诸如，植物或草药的代谢物）至该经处理的表面上以达到直接结合的目的。玻璃载片亦产生不应有的高背景信号，而可能干扰随后经标记物处理的生物芯片的分析。因此，此技术需要开发出新材料或发展出能够易于修饰或改质的材料以取代玻璃材料充作生物芯片的基材。

近来，已对开发塑料载片为基材的生物芯片作出某些努力，作为此芯片基材的塑料载片不仅比玻璃载片的取得成本较低，且还可通过惯用的注射模塑法轻易地模塑成所需要的形状。

WO 00 / 55627 揭示一种用于检测标的分析物的生物芯片，它包含固定于非荧光的丙烯酸性基材上的一系列生物性结合配体。

WO 00 / 36145 揭示一种制造生物芯片的方法，它包含接枝生物性探针至导电性聚合物上。

EP 1026259 揭示一种 DNA 芯片，它包含固体载体及于亲水性聚合物的存在下固定于该固体载体上的寡聚核苷酸或聚核苷酸。

虽然塑料材质已被使用以制造 DNA 芯片，然而迄今并未成功地使用表面经处理的塑料载片以适宜的微数组的形式固定蛋白质、肽或小分子化合物至其经处理的表面上，特别是在该蛋白质、肽或小分子化合物未经修饰的情况下。

此外，现有技术并未教示或建议聚苯乙烯材质的塑料载片的表面可通过利用

简单的试剂以一步骤的方式加以处理,使得寡聚核苷酸或聚核苷酸能够以适宜地的微数组的形式固定在其经处理的表面上。

(3)发明内容

本发明的一目的是提供一种表面经化学处理的塑料载片,用于固定蛋白质、肽或小分子化合物至其经处理的表面上以制造生物芯片。

本发明的另一目的是提供一种聚苯乙烯材质的表面经处理的塑料载片,用于固定寡聚核苷酸或聚核苷酸至其经处理的表面上以制造 DNA 芯片。

根据本发明一方面提供的表面经处理的塑料载片,其特点是,包含塑料载片和于该塑料载片上充作间隔层的涂层。

根据本发明另一方面提供的一种供固定寡聚核苷酸或聚核苷酸用的表面经处理的聚苯乙烯材质载片,其特点是,包含聚苯乙烯材质载片和于该聚苯乙烯材质载片上充作间隔层的涂层。

为进一步说明本发明的目的、结构特点和效果,以下将结合附图对本发明进行详细的描述。

(4)附图说明

图 1(a)是显示已经由 Cy5 标记的链抗生物素蛋白探测的固定化生物素、生物素化衍生物及生物素化蛋白质的荧光强度的曲线图。

图 1(b)是显示已经由 Cy3 标记的链抗生物素蛋白探测的固定化生物素、生物素化衍生物及生物素化蛋白质的荧光强度的曲线图。

图 1(c)是显示经单株鼠抗 DIG 杂交及随后经 Cy3 标记的兔抗鼠 Ig G 探测的固定化 DIG 衍生物的荧光强度的曲线图。

图 2 是显示固定化经 Cy3 标记的糖皮质激素受体肽的荧光强度。

图 3(a)显示固定化经 Cy3 标记的 DNA 的荧光强度的曲线图。

图 3(b)是显示经 Cy3 标记的 DNA 探针处理的固定化 DNA 的荧光强度 d 的曲线图。

(5)具体实施方式

本发明揭示表面经化学处理的塑料载片，用于可直接固定蛋白质、肽或小分子化合物至其经处理的表面上以制造生物芯片。利用本发明的表面经化学处理的塑料载片所制造的生物芯片可用于充作标的物筛选（shotgun screening）的平台，该标的物筛选能以标的物导向达到高效结果（high throughput）的方式筛选出生物活性物质。

本发明塑料载片的材料可为同聚物或共聚物，是由 1 种或多种单体所制备，该单体是选自乙烯，卤乙烯，丙烯，卤丙烯，丙烯酸酯，甲基丙烯酸酯，丁二烯，丙烯腈（腈），原冰片烯或苯乙烯，其中苯乙烯的聚合物是适宜的。本发明塑料载片的材料亦可为聚碳酸酯。该塑料载片的大小是相当于微数组器或激光扫描仪所惯用的载片大小。

于本发明中，使用塑料载片的优点是在于可使用各种不同的化学药剂以处理或修饰塑料载片的表面，使得不仅是大分子化合物（诸如蛋白质和 DNA），亦包括小分子化合物（诸如植物或草药的代谢物）可固定于该塑料载片的表面上。此优点若对照惯用的玻璃载片仅能用于固定大分子化合物（诸如蛋白质和 DNA）的事实尤显得重要。另外，塑料载片可易于模制成所需要的形状，且亦具有成本低的优点。于本发明的较佳体系中，塑料载片是经模制以具有至少 2 个凹槽，使得于同一个塑料载片的凹槽中可同时进行至少 2 个不同的反应。每一个凹槽的深度可为相同或不同，且是介于低于 0.03MM 至高达 0.5MM 之间。另外，每一个凹槽的相对两边可分别模制栏杆以用于支撑玻璃盖，其中该玻璃盖是用于防止蒸发或损失加载至该凹槽内的溶液。

于制备本发明的表面经化学处理的塑料载片中，是利用多官能性醛及随后浸没于提供 NH_2 基团的前体溶液中以先期处理上述的塑料载片，使得经先期处理的塑料载片于其表面上含有具活性的胺基。该提供 NH_2 基团的前体可为有机物或无机物，且可选自 NH_4OH ，一级胺，二级胺或叔胺，其中该一级胺，二级胺及叔胺的脂肪族及 / 或芳香族部分可用于充作额外的间隔层。于该提供 NH_2 基团的前体中，直接提供自由 NH_2 基团的 NH_4OH 和一级胺是适宜的。

进一步，使该经先期处理的塑料载片涂覆一层充作间隔层的多官能性分子（例如，多官能性环氧化物）以制备本发明的表面经化学处理的塑料载片。于功能上，该多官能性环氧化物的作用是连接固定于该表面经化学处理的塑

料载片上的测试样品（适宜地呈微数组的型式）中所需要的成份。该多官能性环氧化物的一端的活性环氧基是与该经先期处理的塑料载片的表面上的胺基反应，而该多官能性环氧化物的另一端的活性环氧基是吸附测试样品中所需要的成份或与其反应。具体说，测试样品中含有自由羟基，氢硫基及 / 或胺基的成份能与该多官能性环氧化物的另一端的活性环氧基反应以形成至少 1 个共价键，因而该成份能连接至该表面经化学处理的塑料载片上。该多官能性环氧化物适宜地是含有 6 至 24 个碳原子的化学链，使得所需要的成份不会直接地结合或吸附至该经先期处理的塑料载片上。该所需要的成份与本发明的表面经化学处理的塑料载片的结合是牢固的，甚至经严厉的脱离冲洗后亦是这样。于本发明中，不仅是高分子化合物（诸如蛋白质和多肽），亦包括小分子化合物（诸如植物或草药的代谢物）皆可以均一相或不均相的方式固定于本发明的表面经化学处理的塑料载片的表面上。

因此，制备本发明的表面经化学处理的塑料载片包含下列步骤：取得塑料载片（适宜地含有凹槽），利用多官能性醛及随后浸没于提供 NH_2 基团的前体溶液（适宜地是 NH_4OH 溶液）中以先期处理该塑料载片，及利用多官能性分子（适宜地是多官能性环氧化物）以涂覆该经先期处理的塑料载片的表面。

本发明的表面经化学处理的塑料载片可用于制备生物芯片，其中均一相或不均相的微数组样品斑点可固定于本发明的表面经化学处理的塑料载片的表面上。所得到的生物芯片可用于以标的物导向的方式筛选出测试样品斑点中所需要的成份。上述的筛选方法可包含下列步骤：将含有标记探针的溶液加载上述的生物芯片中以进行化学反应（其中每一个凹槽可覆盖玻璃片以防止该含有标记探针的溶液的蒸发），及通过利用装置（例如激光扫描仪）以显影并鉴定出能与该标记探针反应或结合的样品斑点。供标记探针用的标记物可为染料或放射性物质。另外，用于杂交反应的探针可为基于已界定的分子机转而呈均一相或不均相的已知标记物，其是为，例如，拮抗诸如经选择的细胞、受体、酶或蛋白质的小分子化合物、竞争性配体、或抗体。

另一方面，本发明还揭示表面经处理的聚苯乙烯材质的塑料载片，用于在其经处理的表面上以适宜的微数组的方式固定寡聚核苷酸或聚核苷酸以制造 DNA 芯片。利用本发明的表面经处理的聚苯乙烯材质的塑料载片所制造的 DNA

芯片可用于充作检测 DNA 用的平台,该平台可通过利用标记探针于杂交条件下检测出于样品斑点中是否存有所需要的 DNA。

本发明所使用的聚苯乙烯材质的塑料载片的大小亦相当于微数组器或激光扫描仪所惯用的载片大小。如前所述,该聚苯乙烯材质的塑料载片亦可经模制以适宜地具有至少 2 个凹槽,使得于同一个塑料载片的凹槽中可同时进行至少 2 个不同的杂交反应。每一个凹槽的深度可为相同或不同,且是介于低于 0.03MM 至高达 0.5MM 之间。另外,每一个凹槽的相对两边可分别模制栏杆以用于支撑玻璃盖,其中该玻璃盖是用于防止蒸发或损失加载至该凹槽内的溶液。

对于修饰聚苯乙烯材质的塑料载片的表面,是于较强的碱性条件下,利用试剂溶液涂覆聚苯乙烯材质的原始塑料载片,该试剂溶液包含不含有 NH_4^+ 基团的缓冲液且该缓冲液含有提供正电荷的聚合物(例如聚离胺酸)。该不含有 NH_4^+ 基团的缓冲液可为碳酸盐缓冲液、磷酸盐缓冲液或柠檬酸盐缓冲液。上述较强的碱性条件可为介于 PH9 至 11 之间。制备本发明的表面经处理的聚苯乙烯材质的塑料载片的优点是在于仅需要单一步骤涂覆简单的试剂溶液。

上述所得到的 DNA 芯片可通过利用标记探针于杂交条件下检测出于测试样品斑点中是否存有所需要的 DNA。该检测方法可包含下述的步骤:将含有标记探针的溶液加载上述的 DNA 芯片中以进行杂交反应(其中每一个凹槽可覆盖玻璃片以防止该含有标记探针的溶液的蒸发),及通过利用装置(例如激光扫描仪)以显影并鉴定出能与该标记探针结合的样品斑点。如前所述,供标记探针用的标记物可为染料或放射性物质。

于效果上,利用本发明的表面经处理的塑料载片所制造的生物芯片及 DNA 芯片皆比玻璃载片所制造的生物芯片显现出极弱的萤光背景。

本发明是以下述的实施例加以进一步的阐释和说明,但须明了的是本发明的范围并不以下述的实施例为限。

实施例:

实施例 1

化学修饰聚苯乙烯材质载片的表面以用于固定蛋白质、糖或小分子化合物

使用聚苯乙烯材质载片，其大小是相当于微数组器或激光扫描仪所使用的惯用玻璃载片，且该聚苯乙烯材质载片具有 2 个凹槽，该凹槽的深度皆为 0.05MM。利用二次蒸馏水冲洗该聚苯乙烯材质载片，随后于室温下利用 95% 乙醇 (ETOH) 冲洗达至少 2 小时。利用二次蒸馏水再次冲洗已清洁的聚苯乙烯材质载片 3 次，随后加以干燥。室温下，使上述经干燥的聚苯乙烯材质载片浸没于 0.4% 戊二醛的 0.1M 磷酸盐缓冲液溶液 (PH 5.0) 中达 4 小时，随后以二次蒸馏水加以冲洗，再于 60℃ 下浸入于 3M NH_4OH 溶液 (PH 11.0) 中达 4 小时。于 37℃ 下，利用 100mM 1,4-丁二醇二缩水甘油醚 (PH 11.0) 隔夜处理所生成的聚苯乙烯材质载片。利用二次蒸馏水冲洗上述经处理的聚苯乙烯材质载片，随后加以干燥。该所生成的经处理的聚苯乙烯材质载片即可用于制造生物芯片，其中可固定蛋白质、肽或小分子化合物。

实施例 2

修饰聚苯乙烯材质载片的表面以用于固定 DNA

使用实施例 1 所使用的具有 2 个凹槽的聚苯乙烯材质载片，利用二次蒸馏水加以冲洗，随后于室温下利用 95% ETOH 冲洗达至少 2 小时。利用二次蒸馏水再次冲洗已清洁的聚苯乙烯材质载片 3 次，随后加以干燥。室温下，使所生成的聚苯乙烯材质载片浸入于试剂溶液中达 30 分钟，该试剂溶液含有 1.12% 聚离胺酸 (Sigma)，0.03% 二甲亚砜 (DMSO) 的 50mM 碳酸盐缓冲液，PH9.5。取出经处理的聚苯乙烯材质载片，并以二次蒸馏水冲洗 4 次，随后置于层流器 (Laminar Flow) 中干燥。所生成的经处理的聚苯乙烯材质载片即可用于制造 DNA 芯片。

实施例 3

制造固定蛋白质、糖或小分子化合物的生物芯片

利用配备有 0.4MM 固体针管的自动装置 MicroGrid II (购自 BioRobotics), 将蛋白质、肽或小分子化合物配置于实施例 1 所制备的经处理的聚苯乙烯材质载片上。使蛋白质溶于水溶性缓冲液中, 且令肽和小分子化合物分别溶于 DMSO 中, 以生成贮存液, 随后使分别含有蛋白质、肽及小分子化合物的贮存液稀释成 30%DMSO /

0.1M 碳酸盐缓冲液, PH 9.5 (其细节将详细说明于下述的「结果」部份)。该固体针管是用于投递分别含有蛋白质、肽或小分子化合物的溶液并形成斑点, 因此于负载每一个样品前, 利用二次蒸馏水冲洗该固体针管达 2 秒, 再利用 70%ETOH 冲洗该固体针管达 2 秒, 随后置于热空气流中干燥达 2 秒。经利用该固体针管完成配置样品于该经处理的聚苯乙烯材质载片上后, 于室温下培育所生成的生物芯片达 2 小时, 随后将其浸没于 1M 乙醇胺中以阻断残留的未反应环氧基团。随后利用 TBST 缓冲液(50mM Tris ·HCl, 0.15M NaCl, 0.05% Tween 20) 冲洗所得到的生物芯片 3 次, 再以二次蒸馏水轻洗 3 次, 进而置于 37°C 下干燥。

实施例 4

DNA 芯片的制备及处理

利用上述配备有 0.4MM 固体针管的自动装置 MicroGrid II (购自 BioRobotics), 将溶于 30%DMSO / SSC 中的寡核聚核苷酸或聚核苷酸样品配置于实施例 2 所制备的经处理的聚苯乙烯材质载片的凹槽上以制备 DNA 芯片, 其中一列寡聚核苷酸或聚核苷酸样品于配置于该经处理的聚苯乙烯材质载片上之前, 是已先期利用 FluoriLink™ Cy3™ 双功能性反应染料 (Amersham) 加以标记。

将变性溶液 (1.5M NaCl, 0.5M NaOH) 加载该 DNA 芯片的凹槽中, 并于室温下培育该 DNA 芯片 2 分钟。自该凹槽移除该变性溶液, 将中和溶液 (1.5M NaCl, 0.5M Tris · HCl, PH7.2, 1mM EDTA) 加载该凹槽中, 并于室温下培育该 DNA 芯片 1 分钟。于 37°C 烘箱中干燥该 DNA 芯片。利用 Stratalinker UV 交联器 (Stratagene) 于 600 (×100) 微焦耳下, 进行数组排列的寡聚核苷

酸或聚核苷酸的交联达 5 分钟。利用二次蒸馏水冲洗该 DNA 芯片 1 分钟达 4 次。将该 DNA 芯片浸没于 95%ETOH 中达 1 分钟，随后置于 37℃烘箱中干燥。将所得到的 DNA 芯片没入经轻微搅拌的琥珀酰 / 硼酸钠溶液（新鲜配制溶液：使琥珀酰（5g）溶解于 1-甲基-2-吡咯烷酮（20ML）中，且仅于浸没该 DNA 芯片前加入 0. 2M 硼酸钠溶液，300ml，PH8. 0）中达 15 分钟。如前所述，利用二次蒸馏水和 95%ETOH 冲洗该 DNA 芯片，并随后加以干燥。

实施例 5

利用荧光团标记蛋白质或肽

依据制造商所建议的处理方法，利用 Fluori Link™ Cy3™双功能性反应染料（Amersham）制备 Cy3 标记的链抗生物素蛋白（streptavidin, SA），兔抗鼠 IgG 及糖皮质激素受体肽。同样地，依据制造商所建议的处理方式，利用 FluoriLink™ Cy5™双功能性反应染料（Amersham）制备 Cy5 标记的 SA。

实施例 6

利用荧光团标记 DNA

依据制造商所建议的处理方法，利用 FluoriLink™ Cy3™-dCTP（Amersham）制备充作探针的 Cy3 标记的 DNA。

实施例 7

利用荧光团标记的蛋白质或肽探测生物芯片

将实施例 5 所制备的经荧光团标记的蛋白质或肽的 TBST 稀释溶液（约 20 至 25 μ l）加载实施例 3 所制备的生物芯片的凹槽中，随后于室温下培育该生物芯片达 2 小时，其中利用 22×22MM 玻璃片覆盖该凹槽。利用 TBST 溶液轻洗该生物芯片 1 次，再利用 TBST 溶液徐缓冲洗该生物芯片 3 次，随后再以二次

蒸馏水冲洗 4 次。于 37℃ 下干燥经探测的生物芯片，随后利用 Gene Pix 400A 载片扫描仪 (Axon Instruments) 加以扫描或于室温下贮存于暗室中。

实施例 8

利用荧光团标记的 DNA 探测 DNA 芯片

将前杂交缓冲液 (25% 甲酰胺, 5×SSC, 0.1% SDS 及 1% BSA) 加载实施例 4 所制备的 DNA 芯片的凹槽中, 且于 42℃ 下培育该 DNA 芯片达 1 小时, 其中利用 22×22mm 玻璃片覆盖该凹槽。利用二次蒸馏水和 95% ETOH 冲洗该凹槽。随后利用缓冲液 (含有 25% 甲酰胺, 5×SSC, 0.1% SDS, 0.5mg/ml 聚腺苷阻断剂及 0.5mg/ml 大肠杆菌或酵母菌全部 RNA) 2 倍顺序地稀释实施例 6 所制备的经荧光团标记的 DNA (0.4 μg/ml)。经于 95℃ 下加热该含有经荧光团标记的 DNA 的溶液达 5 分钟及随后将其置于冰上冷却达 1 分钟后, 将该含有经荧光团标记的 DNA 的溶液 (约 20 至 25 μl) 加载至该凹槽中。于 42℃ 和潮湿条件下, 隔夜培育该 DNA 芯片以进行杂交反应。随后移除覆盖的玻璃片, 且利用 2×SSC 冲洗该凹槽。室温下利用 0.1×SSC 冲洗该凹槽 5 分钟。重复上述的冲洗流程一次, 再以二次蒸馏水轻洗该凹槽 5 分钟达 4 次。干燥所得到的经探测的 DNA 芯片, 并以前述的方法进行扫描。

实施例 9

扫描经探测的生物芯片和 DNA 芯片

利用 GenePix 4000A 载片扫描仪 (Axon Instruments) 扫描实施例 8 和 9 所制备的经探测的生物芯片和 DNA 芯片, 并随后利用 GenePix 3.0 软件加以分析, 其中通过比例中间值 (medium of ratios) 计算荧光强度, 其结果显示于附图中。

结果

图 1A、1B 及 1C 所示的数组样品是顺序地自栏 A 至 J (由左至右) 2 倍稀释。每一列的第 1 个样品的浓度是如下所述:

第 1 列: B-G (生物素化明胶), 100 μg/ml

第 2 列: 生物素 (Sigma B-4501), $400\text{ }\mu\text{g/ml}$

第 3 列: B-ACH (生物素酰胺基己酰肼 (biotinamidocaproyl hydrazide) (Sigma B-3770), $400\text{ }\mu\text{g/ml}$

第 4 列: B-ACHSE (生物素酰胺己酸 N-羟基琥珀酰亚胺酯 (biotinamidocaproate N-hydroxysuccinimide ester) (Sigma B-2643), $400\text{ }\mu\text{g/ml}$

第 5 列: B-WGA (生物素化麦芽凝集素, Vector Lab B1025 S), 100mg/ml

第 6 列: 人类 IgG, $100\text{ }\mu\text{g/ml}$

第 7 列: DIG-HSE (异羟基洋地黄毒苷 (digoxigenin) 3-0-甲基羰基-胺基己酸-N-羟基琥珀酰亚胺酯, BM1333054), $100\text{ }\mu\text{g/ml}$

第 8 列: 兔 IgG, $100\text{ }\mu\text{g/ml}$

第 9 列: 皮质醇, $100\text{ }\mu\text{g/ml}$

第 10 列: 肽 PQGIAGQR, $100\text{ }\mu\text{g/ml}$

附图中制备物所使用的蛋白质浓度如下所述:

图 1(a): $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ Cy5 链抗生物素蛋白

图 1(b): $0.5\text{ }\mu\text{g/ml}$ Cy3 链抗生物素蛋白

图 1(c): $1/5000$ 单株鼠抗 DIG $0.5\text{ }\mu\text{g/ml}$ Cy3 兔抗鼠 IgG

图 2 所示的 Cy3 标记肽的序列是 CKPLIPDTKPKIKD。数组肽的浓度是自栏 A 至 J (由左至右) 起始自 $2\text{ }\mu\text{g/ml}$ 顺序地 2 倍稀释。

所使用的 DNA 是由 PCR 制备, 且通过利用产品组套 (High Pure PCR Product Purification Kit, BM) 依循制造商的指示进行纯化。

图 3(a): 溶于 30% DMSO / SSC 的 Cy3 标记的 DNA, 未经任何修饰, 自栏 A 至 J 顺序地稀释 4 次。组阻断及冲洗处理后, 扫描 DNA 芯片。第 1 个样品浓度是 $0.2\text{ }\mu\text{g/ml}$ 。

图 3(b): 如上述般将溶于缓冲液的 DNA 自栏 A 至 J 顺序地稀释 4 次。起始浓度是 $0.4\text{ }\mu\text{g/ml}$ 。经阻断及冲洗处理后, 利用 Cy3 标记的 DNA 探针培育 DNA 芯片。该 Cy3 标记的 DNA 浓度是 $0.1\text{ }\mu\text{g/ml}$ 。

当然, 本技术领域中的普通技术人员应当认识到, 以上的实施例仅是用来说

明本发明，而并非用作为对本发明的限定，只要在本发明的实质精神范围内，对以上所述实施例的变化、变型都将落在本发明权利要求书的范围内。

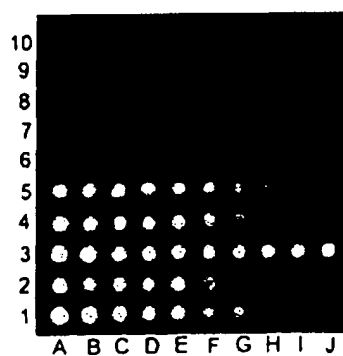
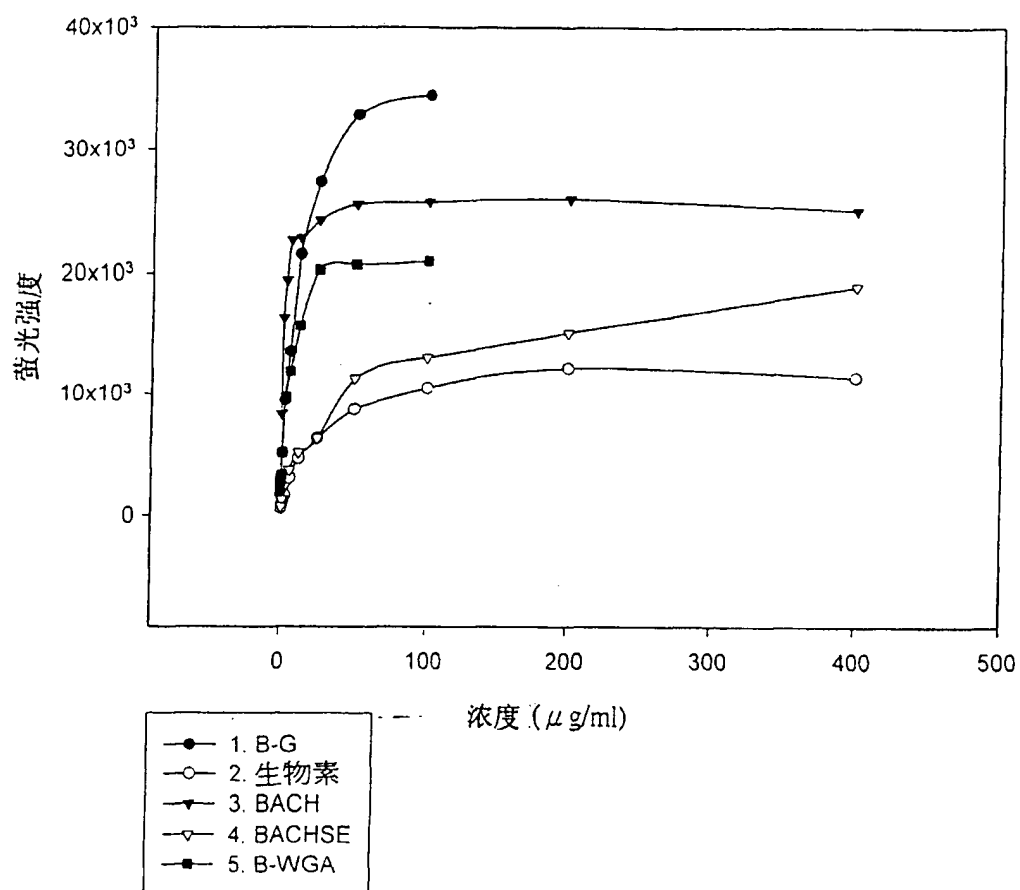


图 1(a)

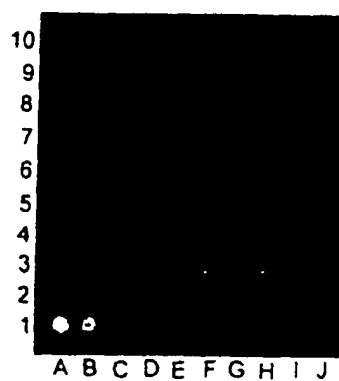
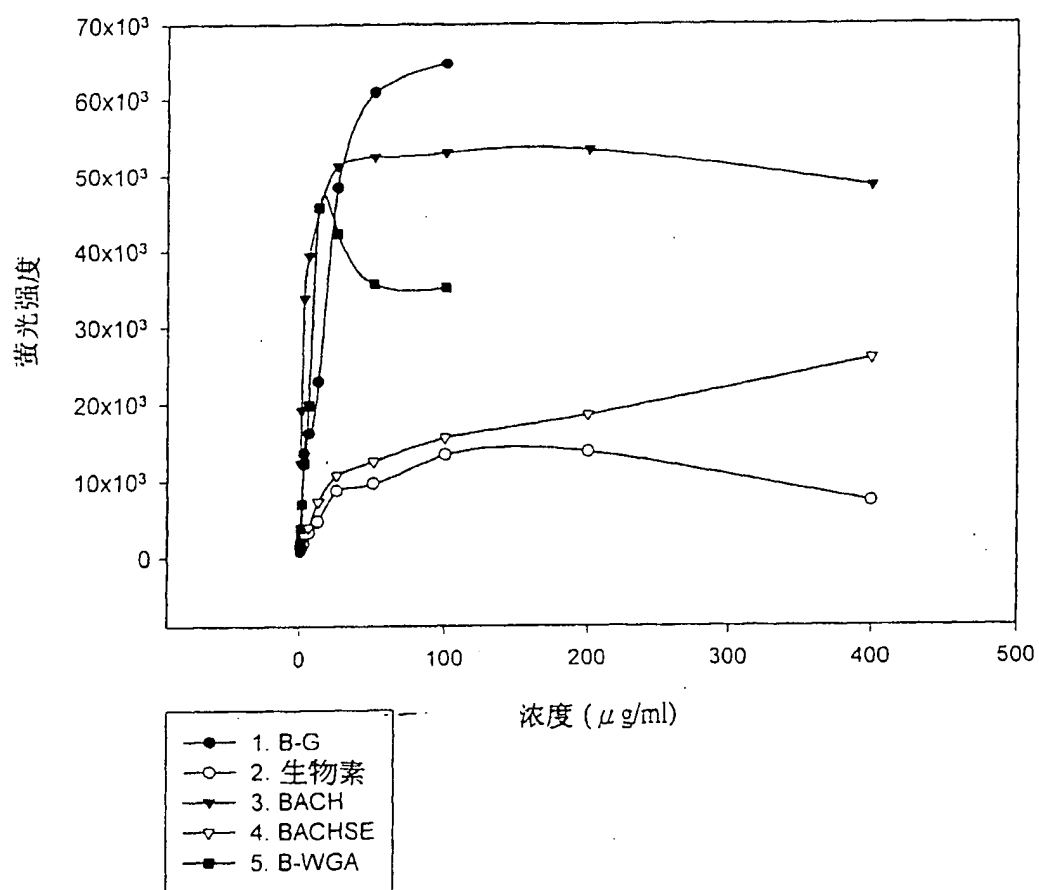
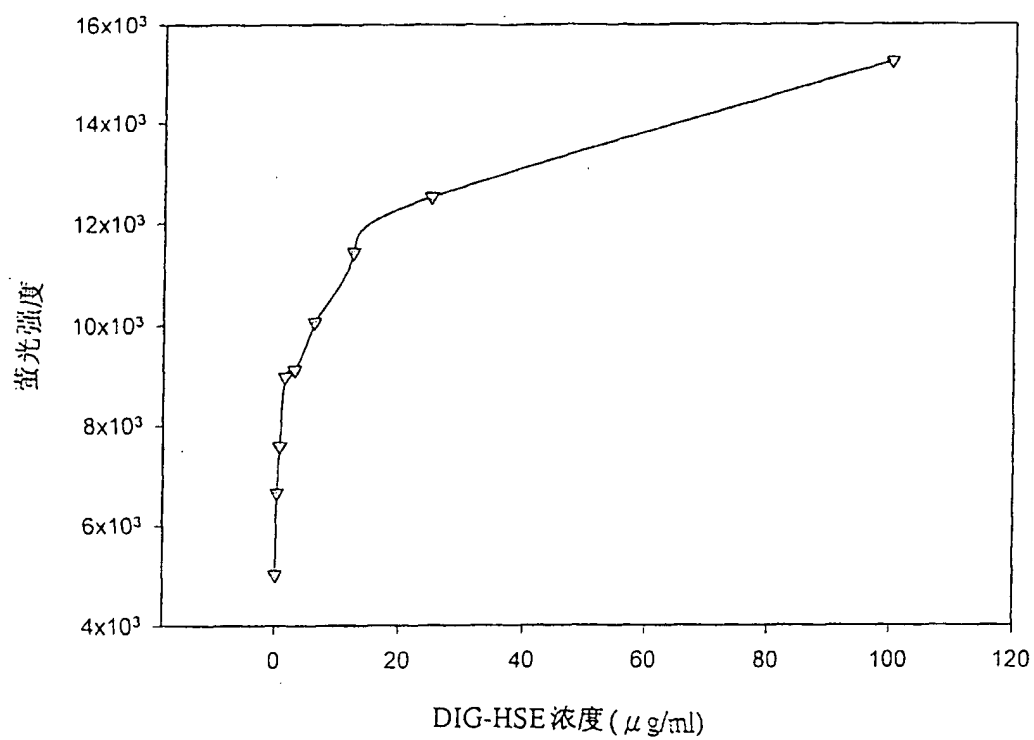
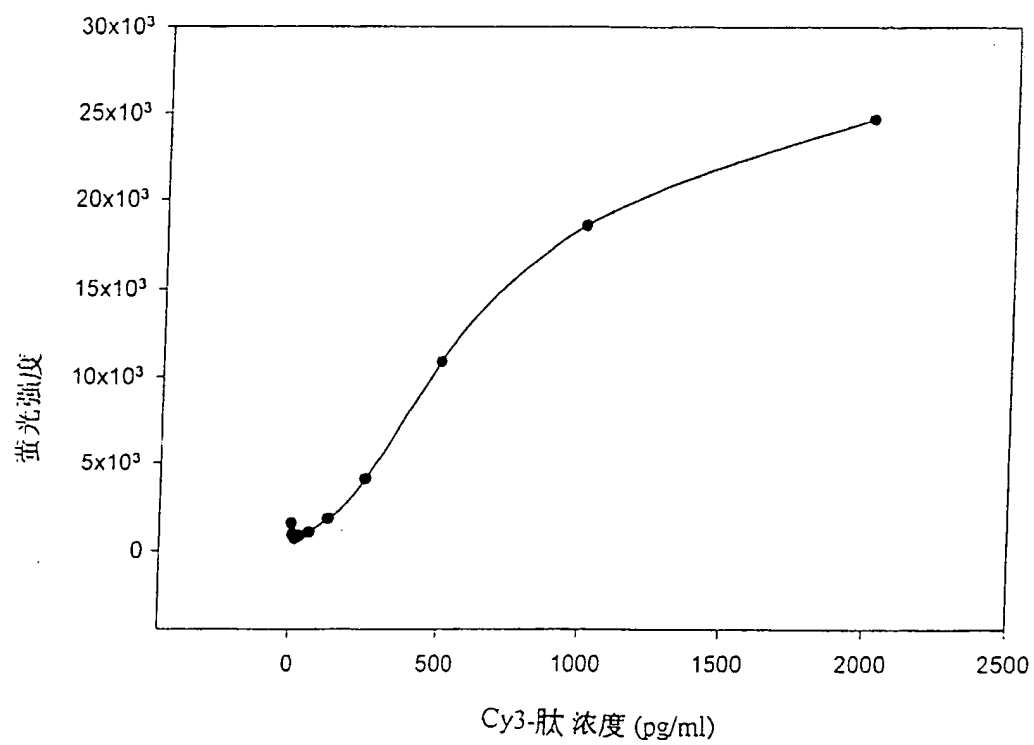


图 1(b)



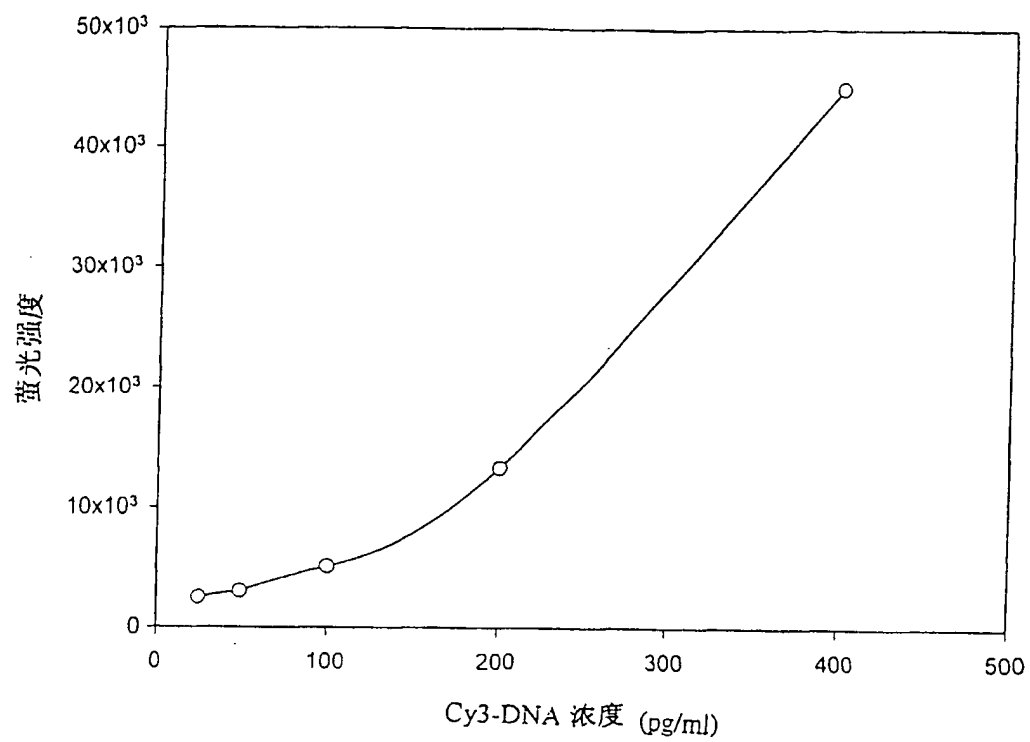
A B C D E F G H I J

图 1(c)



2
1
A B C D E F G H I J

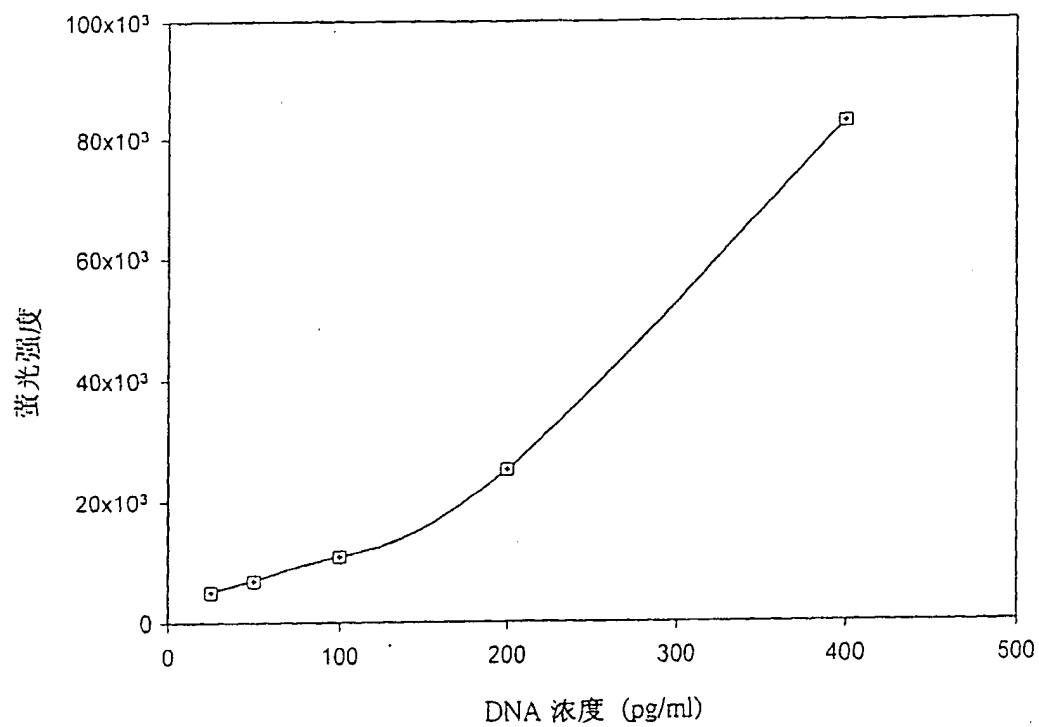
图 2



(a)



图 3(a)



(b)



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

图 3(b)

51457-2002

DELPHION**Select****RESEARCH****PRODUCTS****INSIDE DELPHION****Log Out** **Work Files** **Saved Searches****My Account**

Search: Quick/Number Boolean Advanced Der

The Delphion Integrated View: INPADOC RecordGet Now: ☒ PDF | [File History](#) | [Other choices](#)Tools: Add to Work File: [Create new Work](#)View: Jump to: Go to: [Derwent](#)☐ [Ema](#)Title: **CN1435488A: Plastic substrate useful for making bio-chip**Derwent Title: Plastic substrate useful for making bio-chip ([Derwent Record](#))Country: **CN** ChinaKind: **A** Unexamined APPLIC. open to Public inspection iInventor: **LIWEI XU**; China
SUZHEN ZHANG; ChinaAssignee: **XIANJIN GENE CO., LTD.** China
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)Published / Filed: **2003-08-13** / 2002-02-01Application Number: **CN2002000103446**IPC Code: Advanced: **C12Q 1/68**; **G01N 33/50**; **G01N 33/68**;
Core: more...
IPC-7: **C12Q 1/68**; **G01N 33/50**; **G01N 33/68**;

ECLA Code: None

Priority Number: 2002-02-01 **CN2002000103446**

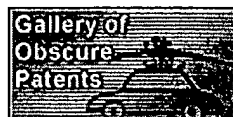
Abstract: A plastic substrate used for preparing biochip is a plastic carrier chip, to which the protein, peptide, or micromolecular compound is fixed after its surface is chemically treated, especially a polystyrene carrier chip, to which the oligonucleotide or polynucleotide is fixed after its surface is treated to obtain DNA chip.

INPADOC Legal Status: None Get Now: [Family Legal Status Report](#)

Family:

PDF	Publication	Pub. Date	Filed	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	CN1435488A	2003-08-13	2002-02-01	Plastic substrate useful for making bio-chip
<input checked="" type="checkbox"/>	CN1194101C	2005-03-23	2002-02-01	Plastic substrate using for making bio-chip

2 family members shown above

Other Abstract Info: **CHEMABS 142(25)459622G**[Nominate this for the Gallery...](#)



Copyright © 1997-2006 The Tho

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact U](#)